



Proyecto de grado para aspirar al título de Médico
Veterinario Zootecnista.



Proyecto de grado para aspirar al título de Médico Veterinario Zootecnista.

**Uso de larvas de *Lucilia sericata* como terapia complementaria en la curación
de heridas necróticas en Medicina Veterinaria.**

**Use of *Lucilia sericata* larvae as complementary therapy in the healing of
necrotic wounds in Veterinary Medicine.**

Lina María Moreno Ospina

Luisa Fernanda Osorio Botero

Asesor

Margarita María Mazo Cardona

MVZ Esp, Mag (E)

Universidad Tecnológica de Pereira

Facultad Ciencias de la Salud

Programa Medicina Veterinaria y Zootecnia

Pereira

2018

Resumen.

La terapia larval consiste en la aplicación de larvas vivas de moscas, microbiológicamente estériles sobre diferentes tipos de heridas como son: úlceras, heridas infectadas, quemaduras y ciertos tipos de tumores. Las larvas cumplen las funciones de eliminar el tejido necrótico, disminuir la infección, promover el crecimiento tisular y mejorar la velocidad de curación. Las moscas más comúnmente usadas en la larvaterapia son las pertenecientes a la familia *Calliphoridae*, que comparten varias propiedades biológicas ventajosas. Dentro de esta familia la especie *Lucilia sericata* ha mostrado los mejores resultados. Esta mosca es de hábitos necrófagos, y una de las especies predominantes en la fauna cadavérica. La crianza de estas moscas y la esterilización de las larvas se realizan bajo parámetros de laboratorio.

Este tipo de terapia se ha implementado y estudiado en mayor medida en humanos, una de las razones podría ser debido al desconocimiento y falta de estudios en el área de la veterinaria. Es por esto que el objetivo de esta monografía es dar a conocer la larvaterapia como método complementario en la práctica médica veterinaria.

Palabras clave: *Lucilia sericata*, desbridamiento, larvaterapia, herida necrótica, enzimas proteolíticas.

Abstract

Larval therapy consists of the application of live larvae of flies, microbiologically sterile on different types of wounds such as ulcers, infected wounds, burns and certain types of tumors. The larvae fulfill the functions of eliminating necrotic tissue, decreasing infection, promoting tissue growth and improving the speed of healing. The flies most commonly used in larva therapy are those belonging to the *Calliphoridae* family, which share several advantageous biological properties. Within this family, the species *Lucilia sericata* has shown the best results. This fly has necrophagous habits and one of the predominant species in cadaveric fauna. The breeding of these flies and the sterilization of the larvae is under laboratory parameters. This type of therapy has been implemented and studied the most in humans; this could be due to ignorance and lack of studies in the area of veterinary medicine. That is why the objective of this monography is to make known larva therapy as a complementary method in veterinary medical practice.

Key words: *Lucilia sericata*, debridement, larva therapy, necrotic wound, proteolytic enzymes.

CONTENIDO

- 1. Introducción.**
- 2. Materiales y métodos.**
 - 2.1. Historia de la larvaterapia en mundo.**
 - 2.2. Historia de la larvaterapia en Colombia.**
 - 2.3. Especies que se pueden utilizar en larvaterapia.**
- 3. *Lucilia sericata* como especie más eficaz.**
- 4. Biología de la *Lucilia sericata*.**
- 5. Ciclo biológico de la *Lucilia sericata*.**
- 6. Definición de cicatrización y sus fases.**
 - 6.1. Fase inflamatoria.**
 - 6.2. Fase destructiva.**
 - 6.3. Fase de reconstrucción.**
 - 6.4. Fase de remodelado.**
- 7. Métodos de desbridamiento.**
 - 7.1. Método quirúrgico.**
 - 7.2. Método enzimático.**
 - 7.3. Método autolítico.**
 - 7.4. Método mecánico.**
- 8. Función de las larvas de *Lucilia sericata* en la cicatrización de heridas.**
 - 8.1. Desbridamiento.**
 - 8.2. Desinfección.**
 - 8.3. Estimulación de tejido de granulación.**
- 9. Método de captura de la mosca *Lucilia sericata*.**
- 10. Proceso de cría.**
- 11. Métodos de aplicación de larvas en heridas.**
- 12. Utilización de la larvaterapia.**
- 13. Conclusiones.**
- 14. Agradecimientos.**
- 15. Bibliografía.**

1. Introducción.

A principios del siglo XX el Dr. William Baer, profesor de ortopedia en la escuela de Medicina Johns Hopkins, de Maryland (6) observó los beneficios de las larvas en heridas traumáticas durante la primera guerra mundial y comenzó a utilizarlas durante su práctica, obteniendo excelentes resultados. Con el advenimiento de los antibióticos y nuevas prácticas médicas, la terapia larval cayó en desuso. Hasta los años 80, cuando el Dr. Ronald Sherman, de la Universidad de California, Irvine (Estados Unidos) (6), empezó a utilizar esta técnica en el tratamiento de úlceras generadas por presión y heridas crónicas (2), motivado por la escasa eficacia de los tratamientos convencionales sobre este tipo de lesiones y también como resultado de la emergencia de cepas bacterianas con múltiples resistencias a los antibióticos. Finalmente, el uso de larvas medicinales aumentó en los últimos 10 años en el mundo como respuesta a las limitaciones de los tratamientos médicos y quirúrgicos convencionales (2, 50, 52). Mientras que, en Colombia la larvaterapia se ha utilizado de forma esporádica en humanos y en la mayoría de casos se ha tenido que importar las larvas. Hasta el momento existen por lo menos cuatro grupos que han trabajado en el desarrollo de esta terapia, resaltándose el trabajo del Dr. Felio de Jesús Bello de la Universidad del Rosario y la Dra. Martha Wolff de la Universidad de Antioquia.

La larvaterapia también denominada biocirugía, bioterapia, desbridamiento bioquirúrgico, terapia larval, larvas de grado quirúrgico y larvas medicinales (33); consiste en la aplicación de larvas vivas de moscas, microbiológicamente estériles sobre diversas lesiones de piel, tejidos blandos y hueso, que incluyen (1) abscesos, heridas necróticas y ciertos tipos de tumores (2), entre otras (11, 22, 27, 28, 37, 41, 45). El mecanismo de acción de la terapia con larvas es conocido por su excelente efecto para desbridar tejidos necróticos, también favorece la formación de tejido de granulación y elimina infecciones en las heridas (3, 39, 40, 45, 46, 47, 50, 51). Convirtiéndose en un complemento terapéutico para contribuir en la medicina veterinaria al desarrollo de la clínica de las diferentes especies (5). Por consiguiente, constituye una alternativa válida para usar en heridas de animales que no responden a los tratamientos convencionales. (2, 52) Y se considera una alternativa terapéutica eficaz en la medicina humana para personas con pie diabético (6) obteniendo resultados de hasta 90% de curación (2). Por otro lado, en medicina veterinaria, se ha

aplicado en estudios puntuales para el tratamiento de heridas necróticas o de difícil cicatrización pero, de forma experimental. Es por esto que el objetivo de esta monografía es dar a conocer la larvaterapia como método complementario en la práctica médica veterinaria.

2. Materiales y métodos.

La utilización de larvas de insectos para la curación de heridas data de épocas inmemoriales y está citada en diversos textos (6).

2.1. Historia de la larvaterapia en el mundo.

En el Hortus sanitatus, manual médico publicado en Maguncia, Alemania, en el año de 1.491 se menciona lo que podría ser una forma de larvaterapia (12). El tema aparece también en algunos relatos de las guerras napoleónicas y de la guerra civil estadounidense (8); en ellos se dice que cuando los soldados llegaban al hospital después de permanecer más de siete días en el campo de batalla, sus heridas no solo se encontraban llenas de gusanos, sino que, sorprendentemente, las zonas circundantes presentaban tejido de granulación y una regeneración cercana al 75% (6). Hay evidencia que entre los indios Mayas se acostumbraba aplicar las larvas de ciertas moscas sobre tumores superficiales y heridas gangrenadas (6). Hacia los años cuarenta, con la aparición de las sulfamidas y de la penicilina, por una parte, y de técnicas quirúrgicas eficaces por otra, la terapia larval cayó en desuso en todo el mundo (11). Los Estados Unidos, Inglaterra y Australia son tres de los países donde la infraestructura de la larvaterapia se ha desarrollado más (6).

En los Estados Unidos, uno de los impulsores del uso de las larvas para el tratamiento de heridas a principios del siglo XX fue el Dr. William Baer, profesor de ortopedia en la escuela de Medicina Johns Hopkins, de Maryland (6) quien observó los beneficios de las larvas en heridas traumáticas durante la primera guerra mundial cuando comenzó a utilizarlas durante su práctica (32). Baer (1931) estudió sus efectos en 89 pacientes con osteomielitis crónica reportando resultados positivos en un 90% (4). Sin embargo, debido a que las larvas utilizadas por él no estaban estériles, algunos de sus pacientes llegaron a infectarse con *Clostridium tetani* (6). Este suceso hizo que en los siguientes años se dedicara a desarrollar un método eficaz para producir larvas estériles(2). La larvaterapia resurgió en los años 80, impulsado por el Dr. Ronald Sherman, de la Universidad de California, Irvine (Estados unidos). (6) Quien empezó a utilizar esta técnica en el tratamiento de úlceras generadas por presión y heridas crónicas (2), motivado

por la escasa eficacia de los tratamientos convencionales sobre este tipo de lesiones y también como resultado de la emergencia de cepas bacterianas con múltiples resistencias a los antibióticos (2, 50). Y en el 2004 la FDA, concedió el permiso para producir y distribuir larvas estériles de *Lucilia Sericata* para su uso medicinal en seres humanos y animales (42) por solicitud del al Dr. Sherman (26-30). También fue aprobada su aplicación médica en Gran Bretaña e Israel. Actualmente el procedimiento se utiliza en más de 20 países, habiéndose dado 30,000 tratamientos durante el año 2003. En América Latina se aplica la larvaterapia, en países como México, Colombia, Argentina y Chile. En México los pioneros de la técnica son un grupo de Médicos del Hospital General Dr. Manuel Gea González, encabezados por el Dr. José Contreras Ruiz, del Departamento de Dermatología, quien comenzó a aplicar esta técnica a baja escala a partir del año 2000 (6). Y se conoce que al menos 24 laboratorios, dispensan larvas medicinales a profesionales sanitarios en más de 30 países, entre ellos: Estados Unidos, Canadá, México, Venezuela, Colombia, Reino Unido, Brasil, Perú y Argentina. (30)

2.2. Historia de la larvaterapia en Colombia.

En Colombia la larvaterapia se ha utilizado de forma esporádica en humanos y en la mayoría de casos se ha tenido que importar las larvas y hasta el momento existen por lo menos cuatro grupos que han trabajado en el desarrollo de esta terapia (11), el grupo de Ciencias Básicas Médicas de la Universidad del Rosario dirigido por el Doctor Felio de Jesús Bello que han venido trabajando en el establecimiento de una cepa de *Lucilia sericata* en Bogotá con aplicación en un modelo animal (12), otro grupo en la Universidad de Antioquia dirigido por la doctora Martha Wolff que ha trabajado en el campo de la entomología forense y ha realizado aplicación de esta terapia en humanos con cerca de 70 casos y en la Universidad Central del Valle del Cauca por el doctor Carlos Andrés Sánchez con ensayos en animales de esta terapia (9). Adicionalmente, de la familia *Calliphoridae* se han registrado 39 especies en Colombia, a partir de los estudios de entomología forense, se distribuyen en Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Norte de Santander, entre otros. (23) Finalmente, con la intención de producir y comercializar la larva de *Lucilia sericata* en Colombia, el INVIMA advierte que es

el ente que vigila éste tipo de producto bajo los decretos: 677 de 1995 y 2266 de 2004. (29)

2.3. Especies que se pueden utilizar en larvaterapia.

La mayoría de las larvas asociadas a miasis no son recomendadas para terapia larval (51). Pero existen distintas especies de larvas que se utilizan en terapia larval las cuales son necrófagas, como las pertenecientes a la familia Calliphoridae, Sarcophagidae, Oestridae. (22) Dentro de los estudios observados, la mayoría hacen referencia a la especie *Lucilia sericata* (2, 6, 8, 9, 15, 17, 22, 31, 37, 38), comúnmente denominada Mosca verde, en su fase adulta (22).

3. *Lucilia sericata* como especie más eficaz.

Las larvas de la mosca *L. sericata* (Diptera: Calliphoridae) son consideradas como las más eficaces para ser empleadas en los tratamientos de terapia larval (37). Sus características biológicas y etológicas hacen que las larvas de *L. sericata* sean las más convenientes para utilizar (20). Los factores biológicos incluyen su rápido desarrollo larval, la facilidad para criar estos insectos in vitro y para esterilizar los huevos (8), además del hecho de que las larvas no invaden órganos internos, dentro de esta familia la especie *L. sericata* ha mostrado los mejores resultados (4, 32). Es por esto que esta monografía se enfoca en la mosca *Lucilia sericata*.

4. Biología de la *Lucilia sericata*.

L. sericata (clase Insecta; orden Diptera; familia Calliphoridae) es un insecto de tamaño mediano cuyo vientre muestra una coloración verde metálico (4). El tórax tiene tres suturas prominentes en la superficie dorsal, un metasternón usualmente piloso, espiráculo protorácico café; los ojos de las hembras están separados por la frente (dicópticos), mientras que los del macho están juntos (holópticos) (32). Es un insecto con hábitos necrófagos y una de las especies predominantes en la fauna cadavérica (4, 40). Es cosmopolita con un alto grado de sinantropía, es decir, en estrecha relación con los asentamientos humanos (39). Más común en los meses de verano y se encuentra naturalmente en las regiones tropicales de Colombia, Argentina, Brasil,

Chile y Perú, entre otros (4).

Por otro lado, las larvas tienen una forma típica, son estrechas en la parte anterior (cabeza) y aplanadas en la parte posterior (32). Su cuerpo consta de 12 segmentos sin una división clara entre la cabeza y los segmentos del cuerpo (12), con un complejo esqueleto cefalofaríngeo (aparato bucal) (10, 51) y ganchos (dientes de cutícula) visibles externamente, que funcionan por un fuerte aparato muscular y le ayudan a moverse por las superficies. Anillos de espinas sobre cada segmento del cuerpo evitan que las larvas se deslicen hacia atrás (12). Respiran a través de aperturas llamadas espiráculos, las cuales se localizan en el final de la parte anterior y posterior del cuerpo. Los espiráculos posteriores se observan a simple vista en las larvas maduras. La cabeza contiene órganos sensitivos primitivos (32) que sólo permiten que las larvas diferencien entre luz y oscuridad, son fotofóbicas y siempre se ocultan de la luz (12).

Para alimentarse, se unen y se hunden en el substrato alimenticio mientras respiran por los espiráculos anteriores. Las enzimas digestivas son producidas continuamente (10) por dos glándulas labiales (glándulas salivares) y secretadas sobre el alimento (digestión externa) (51). Posteriormente, una poderosa bomba faríngea succiona el alimento. Esta estrategia alimenticia permite que las larvas ingieran en cinco minutos una cantidad de alimento equivalente a la mitad de su peso corporal. La energía almacenada por las larvas es esencial para llevar a término el proceso de metamorfosis (12).

5. Ciclo de la *Lucilia sericata*.

En su hábitat natural, la hembra adulta deposita entre dos mil y tres mil huevos que miden aproximadamente 2 mm de longitud, a lo largo de unas pocas semanas, aunque muy pocos embriones sobreviven hasta la adultez. La hembra alcanza su periodo de mayor fecundidad entre las 2 y 4 semanas de vida, y antes de desovar habrá copulado con múltiples machos (32). Sin embargo, la deposición de huevos se posterga hasta el momento en que otras hembras se encuentren en el mismo punto del ciclo reproductivo, pues al aumentar la cantidad de larvas se incrementan las posibilidades

de supervivencia (4).

Los huevos se depositan en grupos directamente en la fuente de alimento que nutrirá las larvas (10) (Figura 1.1).



Oviposición de *Lucilia sericata* en condiciones de laboratorio. Distrito de Trujillo, Perú. 2014.



Posturas de *Lucilia sericata*, Distrito de Trujillo, Perú. 2014.

Figura 1.1. Oviposición de la hembra y las posturas en el sustrato.

El desarrollo de los embriones requiere de un ambiente húmedo para prevenir la desecación, por lo que a menudo se les encuentra anidados en cadáveres animales en descomposición o en heridas necróticas y húmedas (4). Los huevos eclosionan entre 18 y 24 horas liberando las larvas en el primer estadio, las cuales miden entre 1 y 2 mm (32, 51) y comienzan a alimentarse inmediatamente mediante la secreción extracorpórea de gran cantidad de enzimas proteolíticas (11).

Continúan alimentándose durante 4 o 5 días en los que realizan dos mudas (segundo y tercer estadio) hasta alcanzar un tamaño de 8 a 10 mm. A partir de ese momento, dejan de alimentarse y abandonan la herida o el cadáver para buscar un lugar seco en el suelo, donde se transforman en pupas (11); las larvas maduras y el inicio de la pupación se presenta una semana después. La pupa se transforma en moscas adultas en 3 a 4 semanas (Figura 1.2).

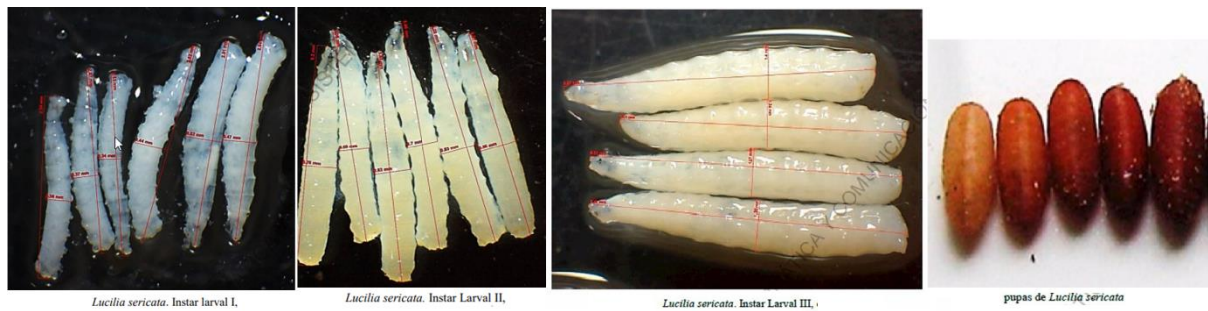


Figura 1.2. Estadíos de *Lucilia sericata*, Larva I, II, III y Pupa respectivamente. (53).

Concluida la metamorfosis, la mosca adulta emerge de la pupa (Figura 1.3), primero los machos y más tarde las hembras. No obstante, toda población de pupas guarda siempre una proporción machos/hembras de 1:1 (4).



Figura 1. 3. Estadío de Pupa, horas antes de emerger el adulto.

Inicia entonces un período reproductivo intenso y al cabo de 6 semanas, los machos mueren seguidos al poco tiempo por las hembras.

De lo antes descrito se deduce que la función primaria de la larva es la alimentación, en tanto que la del imago o adulto es la propagación (4). (Figura 1.2)

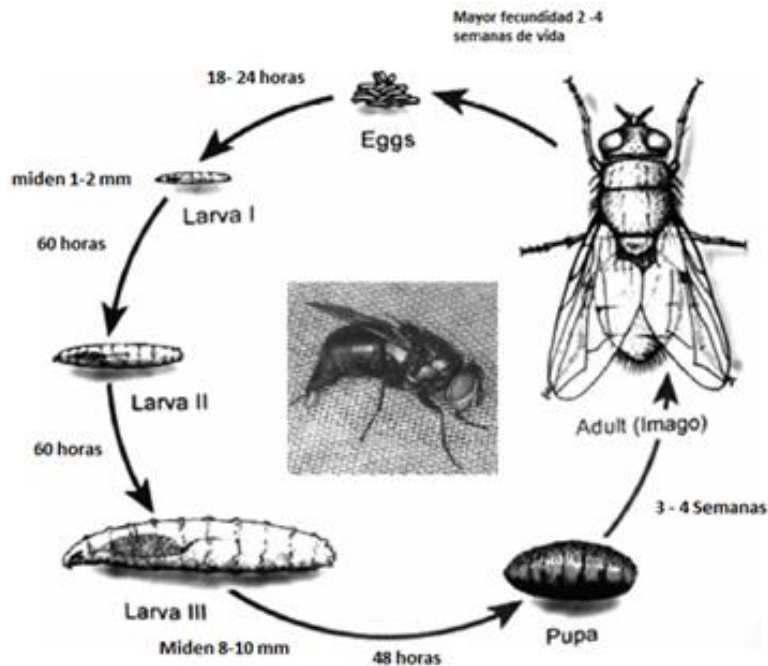


Figura 1.2. Ciclo de vida de *Lucilia sericata* (13).

6. Definición de cicatrización y sus fases.

Se utilizará la larva de esta mosca (durante sus tres estadios) para su aplicación en el proceso de cicatrización. Esta se define como la capacidad de autoreparación que regenera el epitelio y reemplaza la dermis por un tejido fibroso. Hay cuatro fases en el proceso normal de cicatrización; la comprensión de los procesos celulares implicados en cada etapa da lugar a mejoras en el tratamiento. Las fases son las siguientes:

6.1. Fase inflamatoria.

Se inicia de manera inmediata con la disrupción de estructuras que ponen inmediatamente en marcha el proceso de inflamación aguda (aumento de permeabilidad vascular, quimiotaxis de células circulatorias, liberación de citocinas y factores de crecimiento, y activación celular) (21). La respuesta hemostática consiste en controlar la hemorragia mediante vasoconstricción, agregación plaquetaria y activación de la cascada de coagulación, que produce fibrina. De este modo se forma el coágulo que rellena el lecho de la herida (14).

6.2. Fase destructiva.

A continuación, se produce la respuesta vascular contraria: la vasodilatación que aumenta la permeabilidad y la migración de leucocitos y monocitos hasta la herida, para eliminar detritus, (los componentes no viables de la herida) y bacterias (21). Su papel inicial es la fagocitación, pero tienen otro papel muy importante: la liberación de factores de crecimiento y otros mediadores imprescindibles para la reparación de los tejidos (14).

Se produce el exudado: fluido inflamatorio, neutrófilos degenerados y compuestos de la degeneración tisular (21). Se genera una matriz extracelular provisional formada por fibrina, fibronectina, células inflamatorias y plaquetas. La duración de esta fase es de 6 horas a 5 días (14).

6.3. Fase de reconstrucción.

En esta fase se inicia la reparación tisular mediante la proliferación de fibroblastos, migración de células endoteliales, proceso de neovascularización y migración de queratinocitos. Las células de los bordes de la herida (queratinocitos) empiezan a dirigirse hacia el lecho de la herida, a las 24 horas de producirse la lesión (14).

Los fibroblastos comienzan a migrar a la herida y producen fibronectina y colágeno (21), que empezará a dar más consistencia a la matriz extracelular (matriz extracelular madura). La angiogénesis, proceso por el cual se crean nuevos vasos sanguíneos, se inicia al mismo tiempo que la fibroplasia (14).

Aparece tejido de granulación, matriz gelatinosa formada por polisacáridos, sales, albumina, vasos sanguíneos neoformados, fibroblastos y fibras de colágeno. Esta fase tiene una duración de 3 a 5 días (21), la cual va a depender del área y profundidad de la herida, de factores intrínsecos al animal y del tipo de manejo que se emplee y complicaciones posibles (14).

6.4. Fase de remodelado.

Es la última fase y la más larga. Se degrada y remodela el tejido de granulación que se ha formado previamente hasta formar un tejido consistente (14). Se ordenan las fibras de colágeno, se contrae la herida y se completa la epitelización de la superficie. Esta fase puede prolongarse entre 1 y 2 años (21).

7. Métodos de desbridamiento.

El tejido necrótico retrasa la cicatrización, debido a que actúa como una barrera mecánica que impide la aproximación de los bordes de la herida favoreciendo el desarrollo de microorganismos y como consecuencia, una posible infección (30). Así que debe ser retirado de la herida para obtener unos bordes y un lecho de herida limpio y fresco que permitan un cierre primario (21).

Este proceso es conocido como desbridamiento y es una parte integral en el proceso de curación de las heridas especialmente de las crónicas y consiste en remover de la herida el tejido necrótico e infectado (9, 45) para promover el adecuado proceso de reparación cutánea (30).

Existen varios métodos de desbridamiento en la práctica médica moderna, (quirúrgico, enzimático, autolítico, mecánico) (9, 30, 45) que pueden utilizarse de manera individual o combinada, a criterio del médico para hacer más eficaz el proceso de cicatrización. (6)

7.1. Método quirúrgico.

Es un método en el que el médico usa instrumentos para remover el tejido de la herida jugando un papel especial la habilidad y conocimiento de la anatomía de este, los parámetros para emplear este método son cuando, se requiere remover de forma rápida grandes cantidades de tejido y se debe tener en cuenta que es una técnica usualmente dolorosa y se deben tomar las medidas de premedicación con el uso de analgésicos o incluso anestésicos (9). El riesgo consiste en eliminar una cantidad excesiva de tejido que pueda ser viable. Tras este tipo de desbridamiento, las heridas suelen tratarse como heridas abiertas con apósitos hidrófilos y vendajes, además de proveer a la herida de un buen drenaje y de un lecho vascular viable (21).

7.2. Método enzimático.

Utiliza enzimas proteolíticas de forma tópica que disuelven y digieren el tejido desvitalizado. Actualmente existen enzimas selectivas que reconocen solo el tejido desvitalizado y enzimas no selectivas. Las enzimas más comúnmente

utilizadas son la combinación urea - papaína y la colagenasa. La urea papaína degrada la fibrina que se encuentra en la parte externa de la herida y la colagenasa las fibras de colágeno que se encuentran en la base, seguido por un proceso de granulación y epitelización (9). Las enzimas deben estar en contacto con la herida por un tiempo determinado para producir el efecto deseado (21).

7.3. Método autolítico.

Es logrado utilizando parches oclusivos y semiocclusivos sobre la herida (por ejemplo, hidrocoloides) permitiendo que los fluidos naturales ablanden la herida produciendo una licuefacción del tejido necrótico con las enzimas proteolíticas (21). Este parche es dejado por 2 a 3 días y cuando es removido la herida es irrigada para remover los detritus, este mecanismo es también usado para ablandar las costras y facilitar el desbridamiento mecánico y quirúrgico. Este tipo de desbridamiento es lento y requiere múltiples aplicaciones y generalmente no es doloroso, pero no es apropiado para heridas infectadas o en heridas muy profundas (9).

7.4. Método mecánico.

Éste método, usa la fuerza para retirar el tejido ya sea usando la irrigación con fluidos, la agitación en terapia de remolinos o la remoción con vendajes o parches de húmedo a seco. Este tipo de desbridamiento es un método no selectivo debido a que tanto el tejido viable como no viable son removidos durante el proceso (21). Esta técnica tiene el potencial de causar dolor episódico y la premedicación es usualmente indicada (9).

8. Función de las larvas de *Lucilia sericata* en la cicatrización de heridas.

La decisión del tipo de desbridamiento a emplear se hará tomando en cuenta la etiología y ciertos elementos tales como dolor, área anatómica, profundidad, otros riesgos que conlleve, etc. (9).

Existe, sin embargo, otro método menos convencional de desbridamiento y curación de las heridas externas, conocido como terapia larval (6), especialmente cuando la respuesta de la herida falla frente a tratamientos médicos y quirúrgicos

convencionales (2, 52). Es una terapia no traumática, mínimamente invasiva para el tratamiento de diferentes tipos de heridas (49, 51) que serán mencionadas más adelante. Las excreciones y secreciones (E/S) de estas larvas no afectan la actividad antibacteriana de ciertos antibióticos (47, 49), es por esto que se utiliza como terapia complementaria. Sin embargo, es importante elegir adecuadamente el tipo de antibiótico ya que puede tener diferentes interacciones como incrementar el efecto del antibiótico o hacer sinergia entre su efecto y el de las E/S de la larva (47). Las larvas utilizadas en la clínica deben ser estériles (48), de allí que sean producidas en laboratorios (4).

Las larvas al interior de las heridas efectúan tres funciones importantes, mediante las cuales contribuyen a la cicatrización de las heridas (5), éstas son: Desbridamiento, desinfección y estimulación de tejido de granulación (39, 40, 45, 46, 47, 50, 51).

8.1. Desbridamiento.

Se ha podido demostrar que cuando la larva se encuentra con su cabeza en contacto con la herida pueden disolver rápidamente el tejido muerto (en 4-5 días) (42) como resultado de la secreción y excreción (ES) colectiva de enzimas proteolíticas (47, 48, 49, 53), las cuales incluyen colagenasa y otras enzimas que poseen la misma actividad de la tripsina (51), leucinaminopeptidasa y carboxipeptidasas A y B (33). Las enzimas digieren la matriz extracelular (5) e incrementan el grado de oxigenación tisular de manera que el tejido necrótico es disuelto para que posteriormente este líquido sea succionado e ingerido (11). Incluso, un estudio comparó la velocidad de desbridamiento de una úlcera venosa entre la terapia larval y el uso de hidrocoloides; y demostró que la terapia larval reduce significativamente el tiempo de desbridamiento (41). Adicionalmente, el tamaño pequeño de la larva en su primer estadio, junto con su capacidad de digerir y eliminar el tejido necrótico; y su efecto desinfectante le permite acceder y desbridar de manera eficiente infecciones necróticas (50).

8.2. Desinfección.

Una vez el tejido necrótico ha sido enzimáticamente licuado, la larva ingiere y digiere el líquido resultante (49). Esta acción implica que cualquier bacteria y posiblemente otros microorganismos presentes sean subsecuentemente lisados

cuando pasan por el tracto digestivo de la larva, (16) incluyendo el biofilm (33) que se considera uno de los causantes de la cronicidad de las heridas. Las secreciones larvales contienen al menos dos moléculas diferentes que son capaces de prevenir la formación de éste microambiente bacteriano y romper las biopelículas establecidas (42). Por otra parte, la actividad antibacteriana parece estar mediada por varios componentes entre los cuales se encuentra un comensal del intestino de la larva el *Proteus mirabilis* y dos agentes con actividad antibacterial identificados como ácido fenilacético y fenilacetaldehído con particular acción en el pH bajo del intestino (15, 22, 53).

Otros mecanismos utilizados son la excreción de bicarbonato de amonio y sus derivados al medio ambiente (herida), neutralizando el exudado ácido producido por la inflamación de la herida o la lesión, elevando así el pH por encima de 7 (48, 51, 53) y por ende reduciendo la colonización de bacterias (34). El carbonato de calcio también encontrado en las excreciones de la larva estimula la fagocitosis gracias a los iones de calcio facilitando el proceso de cicatrización en heridas infectadas (5). Las excreciones y secreciones larvales, externalizadas en las heridas, las cuales contienen compuestos de bajo peso molecular y metabolitos, han demostrado en condiciones in vitro actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (11). Además, algunos de estos compuestos antimicrobiales pueden estar también relacionados con la respuesta inmune del insecto, que en este caso es activada durante la terapia de desbridamiento larval (16) para protegerse de cualquier bacteria antes de pupar (51), se destacan entre otros las siguientes proteínas: homóloga de la sapecina-B, serina proteasa y tres nuevos péptidos antimicrobiales ricos en prolina y lisozima (16). Es importante tener en cuenta que en ningún caso las larvas ni sus secreciones afectan al tejido viable (42, 44, 48, 53).

Finalmente, otra acción de eliminación de bacterias en las heridas ocurre mediante el lavado mecánico de estos microorganismos como resultado del incremento de exudado, debido al efecto irritante de las larvas y por la licuefacción enzimática del tejido necrótico (5). Y al disminuir entonces la carga bacteriana, contribuye a reducir la inflamación (46).

8.3. Estimulación de tejido de granulación.

Las iniciales teorías sobre el efecto de las larvas en las heridas señalaban como importante la acción física de las larvas, a través de sus movimientos de rastreo en la lesión, para la estimulación del tejido de granulación en el proceso de curación. (34, 49, 51). Este criterio fue también, más tarde, apoyado por la observación de que las larvas mejoraban la oxigenación del tejido en heridas crónicas. Además, según el Dr. Felio de Jesús Bello (11), desde hace mucho tiempo, científicos sugirieron que la acción de algunas sustancias excretadas por *L. sericata* como alantoina (2,5-Dioxo-4-imadazolidinil úrea), úrea o bicarbonato de amonio (49, 51) podrían ser los responsables del crecimiento del tejido de granulación. En efecto, usando estas sustancias en las heridas se demostró estimulación en el crecimiento local del tejido de granulación (5, 44). Sin embargo, exceso de estas sustancias puede irritar el tejido sensible (49).

Además, se pudo observar que, en presencia de concentraciones estimuladoras de factores de transformación del crecimiento, los extractos de las larvas (las secreciones alimentarias y la hemolinfa) causaban la activación de neutrófilos; y significativa proliferación (48) y crecimiento de los fibroblastos (15, 49) modificando también su adhesión al colágeno y la fibronectina (41). Se ha señalado que la proliferación de los fibroblastos es sólo un aspecto de la formación del tejido de granulación, y al parecer mecanismos adicionales pueden estar involucrados (15). Así, por ejemplo, se indicó que cuando las larvas son introducidas en heridas necróticas, ellas potencialmente influyen en los eventos de la cicatrización de la herida con proteasas presentes en las excreciones y secreciones, las cuales están involucradas en la remodelación de los componentes de la matriz extracelular. Se sugirió que las proteinasas causan la lisis de fibrina de la matriz extracelular, liberando factores proliferativos, tales como fragmentos de fibronectina, que causan efectos favorables en la cicatrización de la herida (5, 11, 16) (la angiogénesis, la aparición de tejido de granulación, la epitelización (30), la remodelación y la regeneración de tejidos (42, 53)).

En conclusión, es gracias a las moléculas de las excreciones/secreciones de ésta larva que se logra la recuperación de la herida (46).

9. Método de captura de la mosca *L. sericata*.

Para la recolección de las moscas se utilizan trampas (37). Se usa un recipiente de 15 cm de diámetro y 20 cm de altura, de color negro. En la periferia de la base se realizan 12 orificios de 13 mm de diámetro ubicados en círculos (por el cual ingresan las moscas). En el fondo del recipiente se deposita un frasco de plástico para el cebo. Sobre este va un cono, que tiene un diámetro de base de 15 cm y una abertura superior de 3,5 cm de diámetro. Sobre la abertura superior del recipiente se coloca una bolsa de plástico (en la que quedan las moscas atrapadas). Las trampas se cuelgan a 1 metro del suelo, en zonas expuestas al sol. (17)

Como cebo se utiliza hígado de bovino (38). Para la clasificación se tiene en cuenta las características taxonómicas ya descritas (Figura 2). (17)

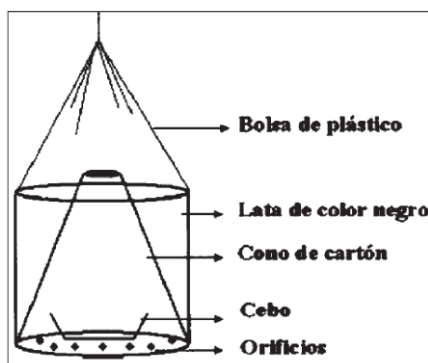


Figura 2. Trampa que se utiliza para capturar moscas (17).

10. Proceso de cría.

Los alimentos y el agua:

Se suministra glucosa al 10 % (18) o una mezcla 1:1 de azúcar y leche en polvo como sustrato alimenticio (37, 39) e hígado para inducir la oviposura. Los recipientes de agua se cubren con dos capas de plástico de burbuja y dos capas de papel toalla (18) o un recipiente con agua invertido sobre una placa de Petri con un papel absorbente (37); permitiendo que las moscas puedan beber sin ahogarse.

El insectario:

Para la cría se pueden utilizar seis jaulas con armazones de alambre que contengan

un promedio de 250-300 moscas en cada uno. La habitación debe tener una temperatura de 25°C y una humedad relativa del 40%. El fotoperiodo al que se exponen es con luz artificial con un temporizador, entre las 6 am y las 3 pm (9 horas, 250 lm) (18). Las jaulas tendrán medidas de 30cm x 30cm x 45cm (37), con pisos metálicos desmontables, están cubiertas con una funda de gasa quirúrgica y marcadas con la fecha de nacimiento de la población. Una malla sintética cubre la puerta del insectario, evitando que las moscas escapen, y una luz atrae y mata las moscas fugitivas. (18)

La producción de huevos:

Entre 1 y 2 semanas de vida, las moscas ponen los huevos. El hígado fresco (37) se coloca sobre un trozo de papel en una caja de Petri. Una taza de café de plástico desechable invertido, con una apertura en el borde, se pone sobre el hígado para crear un área protegida para que las moscas depositen sus huevos (Figura 3, A).

Después de unos 30 minutos, de haber puesto el hígado, las moscas comenzarán a poner los huevos. La tasa se retira después de una hora para evitar que los huevos se sequen (1 hora y 30 minutos en total). Con un bucle de inoculación de plástico desechable (10 µl) se recogen los huevos y se ponen en un vaso de agua fría. (18)

Debido a que la superficie exterior de los huevos de las moscas está por lo general contaminada de bacterias (36) pueden ser utilizados para la cría de larvas/moscas no desinfectados para mayor producción de huevos, o ser desinfectados para la cría de larvas destinadas a terapia larval (Figura. 3, B₁ o B₂). (18)

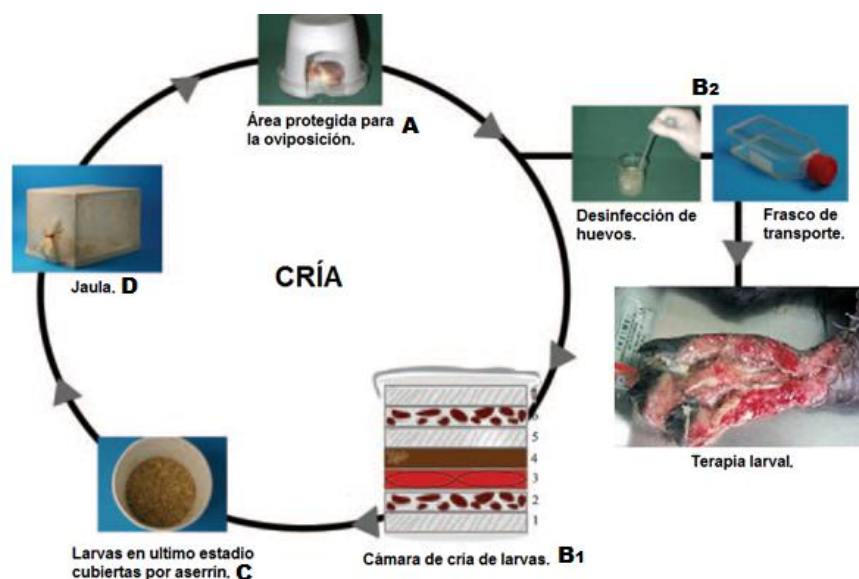


Figura 3. Proceso cría de larvas (18) (Modificada). Descripción de la sala de crianza: tiras de espuma de poliuretano con un espesor de 2 mm (1, 5, 7), trozos de morcilla (2, 6), dos placas de agar sangre de caballo (3), carne con huevos no desinfectados sobre ella (4). Una tela y una tapa de plástico con una abertura grande se utilizan para sellar la cámara.

Cría de larvas/moscas no desinfectados para producción de huevos:

La mayoría de los huevos son recolectados y puestos en un vaso de precipitado (beaker) con agua, éste se coloca en una cámara de cría. La cámara está hecha de un pequeño recipiente de plástico con tapa hermética en la que habrá un agujero.

En el interior del recipiente, se colocan tiras de espuma de poliuretano en la capa inferior. Hígado triturado constituye la siguiente capa y dos placas de agar sangre de caballo forman la tercera capa. Las siguientes capas están compuestas de hígado con huevos y tiras de espuma de poliuretano, más hígado triturado y más tiras de espuma de poliuretano. La última capa de la cámara de cría se compone de una tela suelta que se mantiene en su lugar por medio de la tapa. Tomados en conjunto, hay siete capas diferentes en la cámara, cada una rociada con agua (Figura 3, B1). La cámara se deja en el insectario durante 4 días para permitir que las larvas lleguen a la edad adulta.

Después de ese tiempo, las larvas necesitan un lugar seco a fin de transformarse en

pupa. Por esta razón, el contenido de la cámara se tamiza a través de un colador en un balde de plástico. Las larvas fotofóbicas se mueven rápidamente en el recipiente cuando la luz está encendida y la superficie resbaladiza del interior del balde les impide escapar.

Las larvas son cubiertas con aserrín y dejadas en un recipiente dentro del insectario durante 6 días para el proceso de formación de la pupa (Figura 3, C y D). Las pupas pueden usarse a la vez para la cría de moscas, o para su almacenamiento y su posterior uso a una temperatura de 4°C durante al menos un mes. La población de moscas de una jaula se desecha cada 6 semanas.

Desinfección de los huevos en la cría de larvas para terapia larval:

Parte fundamental del proceso de desinfección es eliminar una pegajosa masa de albúmina que los cubre y atrapa bacterias (36); así que los huevos se separan el uno del otro con una pipeta de plástico desechable en agua (Figura 3, B₂). Los huevos saludables se hunden hasta el fondo del vaso y se reconocerán fácilmente. Los otros se extraen con una pipeta de vidrio en un tubo conectado a la toma de agua y se desecharán. El procedimiento se repite, hasta que el agua se ve limpia.

Se han descrito diferentes procedimientos de desinfección de los huevos, éstos son:

- Un pre-tratamiento con solución de Dakin (hipoclorito de sodio diluido o cloro) seguido de una inmersión en cloruro de mercurio o formalina (37).
- Lavado e incubación por 20 minutos en una solución de formaldehído al 2,5 % (v/v) y sulfito de sodio al 1 %; posteriormente, lavado con solución de cloruro de sodio al 0,9 %, en una cabina de flujo laminar (9).
- Inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0,05%, con agitación continua durante 2 minutos; luego pasados por formaldehído al 5% durante otro minuto y finalmente un lavado con agua destilada estéril por 3 minutos (20).
- Un enjuague tres veces en una solución de formaldehído al 2,5 % y sulfito de sodio al 1 % (desinfectante) reemplazando el agua. Luego depositados en un frasco estéril de cultivo tisular de poli-estireno (tapón ventilado, cuello inclinado, 25 cm). La solución de formaldehído al 2,5 % y sulfito de sodio al 1 % se le adiciona hasta que el frasco de cultivo de tejidos esté lleno. Se agita el frasco

fuertemente (40), con la mano y luego con un agitador por 20 minutos antes de que la solución sea extraída con una pipeta de vidrio. El procedimiento se repite tres veces. Todo el proceso de desinfección tardará aproximadamente 1,5 horas. (18)

- Otros agentes desinfectantes y esterilizantes que han sido utilizados incluyen el ácido hidroclorehídrico (37) y el Lysol comercial (50, 52), además de sulfito de sodio al 1 % en solución salina y formaldehído al 2,5 %. También, ha sido reportado el empleo de alcohol y bicloruro de mercurio (37).

El procedimiento se elegirá según el criterio del médico o investigador y la disponibilidad de las soluciones.

Los huevos desinfectados se colocan en un matraz de almacenamiento y transporte. En este frasco, ocurre la eclosión y la alimentación de las larvas durante el primer día. Se ponen alrededor de 200 huevos en cada frasco, que consta de un frasco de cultivo de tejidos lleno con una mezcla de 1 ml de infusión de cerebro y corazón (BHI), caldo y 1 ml de EX-Agar estándar. Las soluciones son disueltas en un baño de agua antes de ser mezcladas. El ex-Agar estándar es de 10 g/l de extracto de carne L29, 10 g/l de peptona bacteriológica L34, 5 g/l de NaCl y el resto es agar. La tapa del frasco de almacenamiento y transporte se cierra suavemente después de poner los huevos en su interior, permitiendo que el aire penetre en ella. Los frascos se dejan a temperatura ambiente durante 24 h, mientras se esperan los resultados de la prueba de control de la desinfección, antes de que puedan ser utilizadas para la terapia larval.

Para retrasar la maduración, las larvas son almacenadas en un refrigerador a una temperatura de 7,5°C (36) durante al menos 5 días.

Se pretende garantizar la igualdad de género en las jaulas, ya que la proporción es 1:1 se pone toda una población de pupa en una jaula vacía y limpia, primero salen los machos y luego las hembras (18).

11. Métodos de aplicación de larvas en heridas.

La terapia larval puede realizarse mediante 2 tipos de técnicas (2, 25, 30, 34, 43).

Aplicación directa de larvas.

Para llevar a cabo la aplicación basta con limpiar el lecho de la herida (30) con solución fisiológica estéril al 0,9% (2). Adicionalmente, se ha de ubicar en el perímetro de la herida un conjunto de apósitos o hidrocoloides (25) con el fin de que las larvas no puedan salir de la herida, proteger la zona periférica de la herida y absorber el abundante exudado que expulsará (30). Se tendrá en cuenta que se debe mantener la humedad y evitar que se compriman o se asfixien. Se aplican 5-10 larvas por cm² (47, 49, 51, 52) aunque algunos autores (24, 48) indican que el número de larvas necesarias se calcula según la severidad de la lesión (superficie de la herida, profundidad, localización, contaminación y trauma ortopédico) (48). Para el cálculo se dispone de herramientas según las dimensiones de la herida y la carga necrótica. (Tabla 1). (24)

Superficie de la úlcera (cm)	Porcentaje de la úlcera cubierta por tejido necrótico				
	20%	40%	60%	80%	100%
Más de 2 x 2	1	1	1	1	1
5 x 5	1	1	1	1	2
5 x 10	1	1	1	2	2
10 x 10	1	1	2	2	2
10 x 15	1	2	2	2	3
15 x 15	2	2	2	3	3
15 x 20	2	2	3	3	3
20 x 20	2	3	3	3	4
20 x 25	3	3	3	4	4
25 x 25	3	3	4	4	5
25 x 30	3	4	4	5	5
30 x 30	4	4	5	5	5

Tabla 1. Tabla para calcular el número de larvas según el tamaño de la herida y cantidad de tejido necrótico en la herida (24).

A continuación se encuentran las Figuras 3.1 y 3.2 que explican el procedimiento a seguir con ésta técnica.



Figura

3.1. Procedimiento para la aplicación de larvas directamente sobre la herida, pasos 1 al 4. (34)



Figura 3.2. Continuación de procedimiento para aplicación de larvas directamente sobre la herida, pasos 5 al 8. (34)

Apósito larval.

Son apósitos de nylon, con larvas encapsuladas en su interior y un polímero de poliuretano hidrofílico (47) que absorberá el exudado de la herida y mantendrá el entorno apropiado para ellas. El apósito se aplica en contacto con el lecho de la herida afectada. Esta técnica evita el peligro de escape de las larvas (30, 47, 50). La desventaja consiste en que a pesar de que las secreciones proteolíticas de las larvas pueden ayudar a remover el tejido necrótico y ayudar con su movimiento al desbridamiento, no tienen la posibilidad de llegar tan fácilmente al tejido necrosado de forma tan eficiente (30, 47) (porque no pueden poner sus ganchos directamente en el tejido de la herida) (51). En las Figuras 4.1 y 4.2 se muestran cómo se debe realizar el procedimiento.

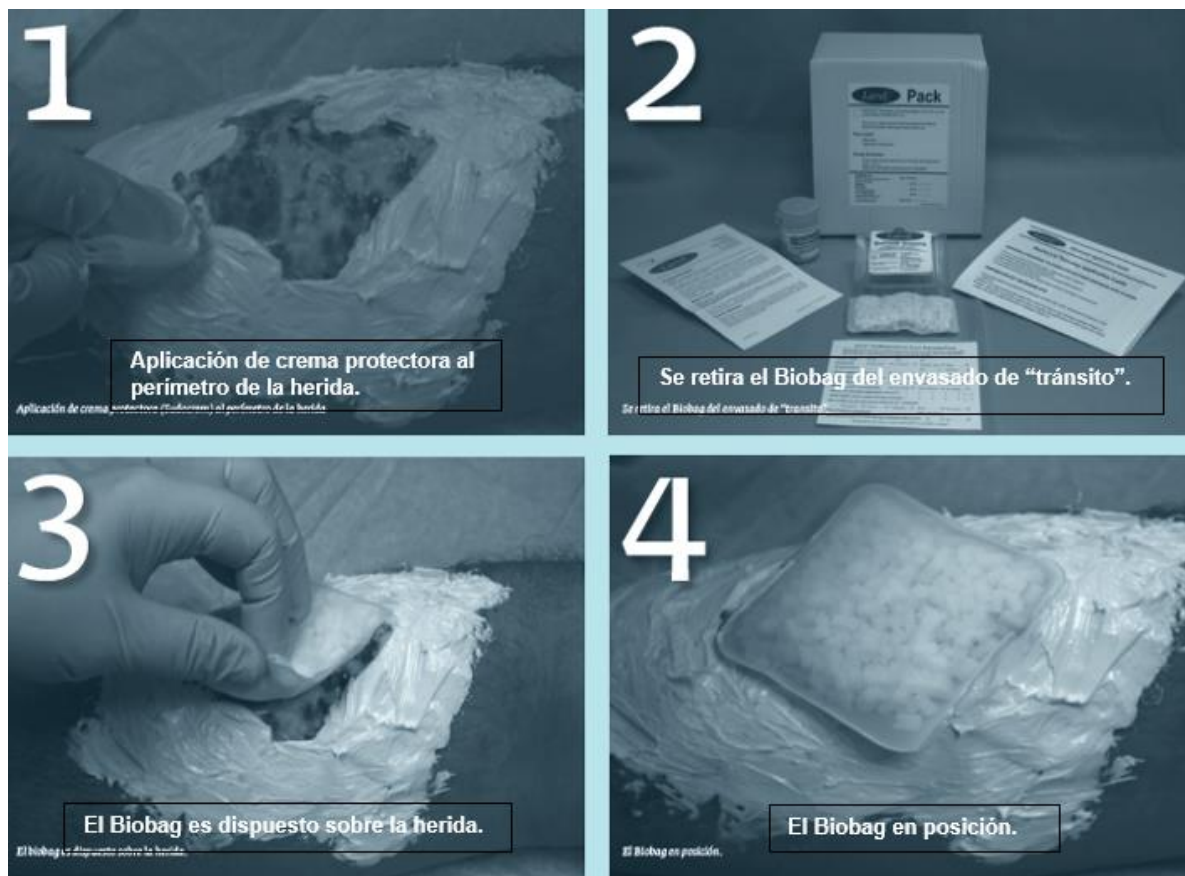


Figura 4.1. Procedimiento a seguir para la aplicación del apósito de larvas. Pasos 1 al 4. (34)



Figura 4.2. Continuación del procedimiento para la aplicación del apósito de larvas. Pasos 5 al 7. (34)

En ambos tratamientos los apósitos se suelen extraer entre 48 y 72 h después de la aplicación (47, 50), y se encuentra que las larvas habrán crecido hasta los 5 a 8 mm; lógicamente las larvas no pueden reutilizarse para otros tratamientos ni en otros pacientes (24), considerando que las larvas y los apósitos son desecho biológico y deben ser descartados (47). Es importante considerar que al ser nuestros pacientes animales es necesario idear técnicas de aplicación segura de los vendajes para evitar que sean removidos por ellos (50). Adicionalmente, es importante evaluar el dolor en nuestros pacientes, esto se hace en base a observaciones subjetivas que muchas veces no pueden correlacionarse con la verdadera experiencia del animal; por esto es necesario observar de cerca a los animales tratados y registrar cambios de comportamiento y dolor percibidos usando una escala análoga visual o método de evaluación similar como la escala del dolor de Melbourne (19, 51).

El resultado esperado es que la carga necrótica haya disminuido considerablemente,

permitiendo la regeneración del tejido afectado y acortando el tiempo de tratamiento total de la herida. En caso que la carga necrótica continúe siendo abundante se puede repetir las veces necesarias. La elección entre uno de los 2 tratamientos dependerá de las características de la herida y su localización. El problema descrito como más habitual reside en la excoriación del tejido cutáneo perimetral a la herida, es por esto que debe aplicarse crema cicatrizante (con zinc) en ésta zona (24, 47), previo al parche hidrocoloide.

Los apósitos superiores en cada caso deben cambiarse debido al exudado de la herida, en la Figura 5 se observa con detenimiento cada capa que se pone sobre las larvas en ambos casos y cada cuanto deben cambiarse los apósitos superiores.

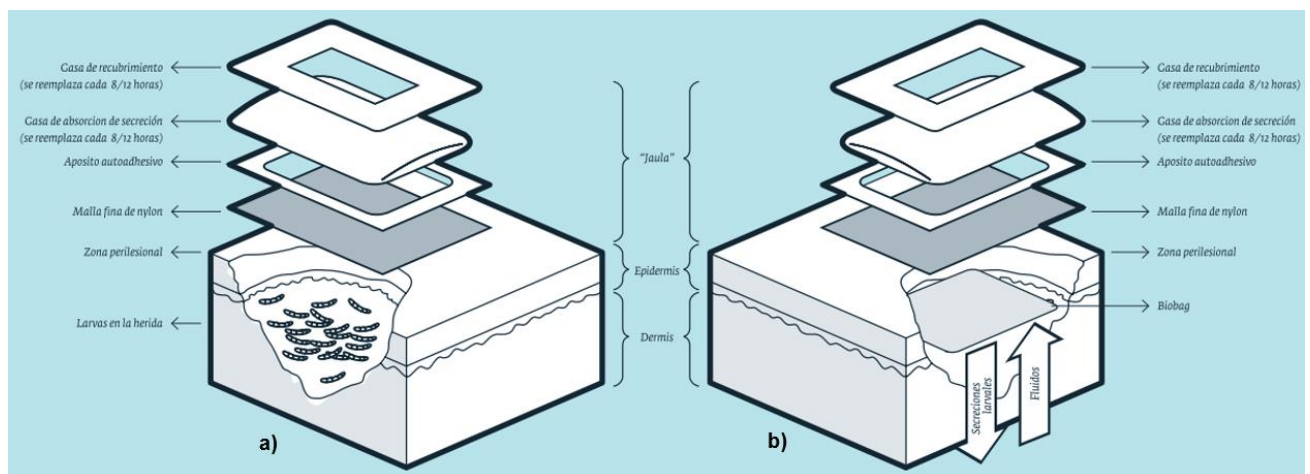


Figura 5. Composición de cada técnica de aplicación; a) Larvas directamente sobre la herida y b) Apósito de larvas. (24)

En el año 2009, en la Universidad de Chile (24), se realizó un trabajo de grado donde se expusieron los resultados post-aplicación de las larvas en úlceras crónicas en humanos. El tratamiento duró entre 3 y 22 días, aplicándose de uno a seis ciclos de tratamiento. En este período, las lesiones quedaron limpias, sin olor, con tejido de granulación, sin secreción y disminución en su tamaño. Se destaca la desaparición del mal olor a las 24 horas en todos los pacientes y la aparición de tejido de granulación en un periodo de dos a tres semanas. Sin embargo, los inconvenientes fueron el escape de las larvas, la muerte por falta de oxígeno (51) de las larvas y se solucionó con el uso de la malla fina de nylon y con el cambio de los apósitos cada 8

horas. Resaltan que las principales desventajas son estéticas y psicológicas, las dificultades que se reportan son para convencer a los pacientes de iniciar su uso, los temores de la comunidad médica de que dañe el ánimo del paciente, la difícil obtención de las larvas y la necesidad de un adecuado entrenamiento del personal de salud para aplicarlas. Adicionalmente el autor propone diferentes opciones alternas del apósito de larvas para su aplicación, las cuales se observan en la Figura 6 a, b, c, d, e y f. (24)

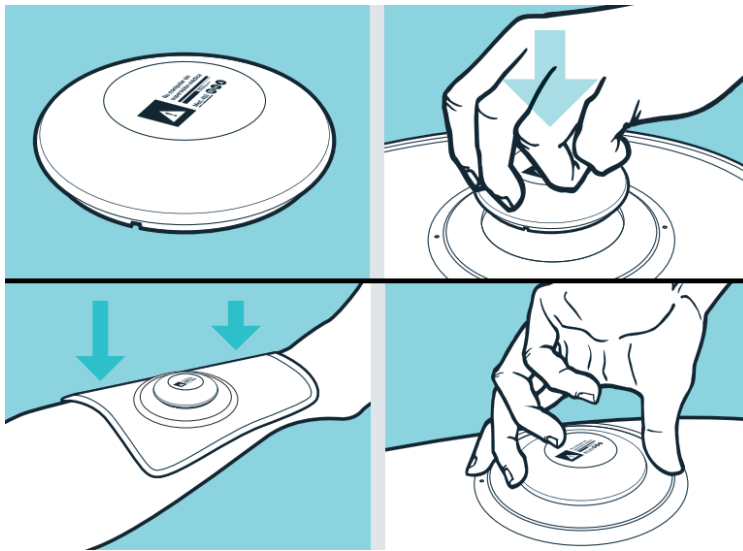


Figura 6a. Propuesta 1

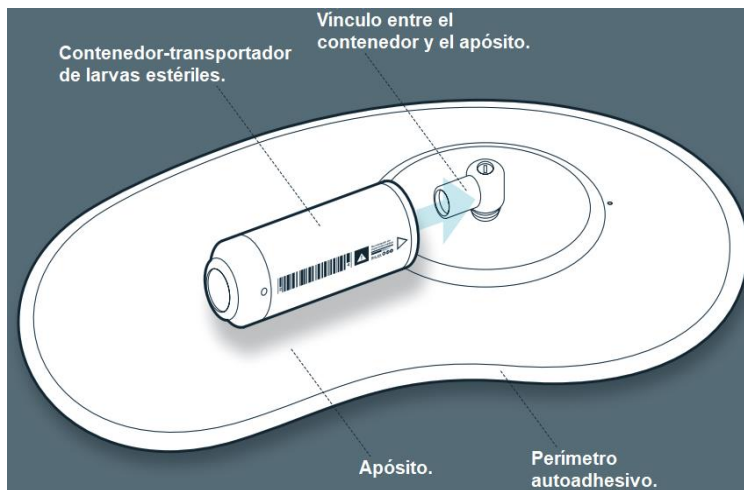


Figura 6b. Propuesta 2.

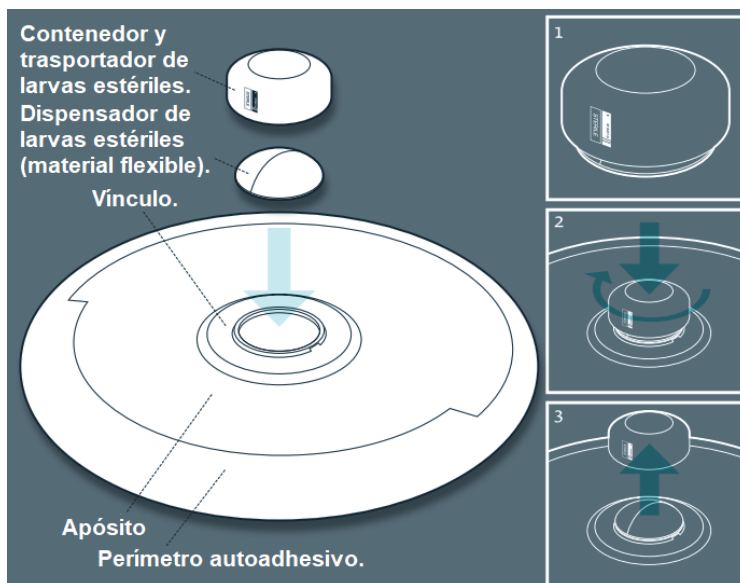


Figura 6c. Propuesta 3.

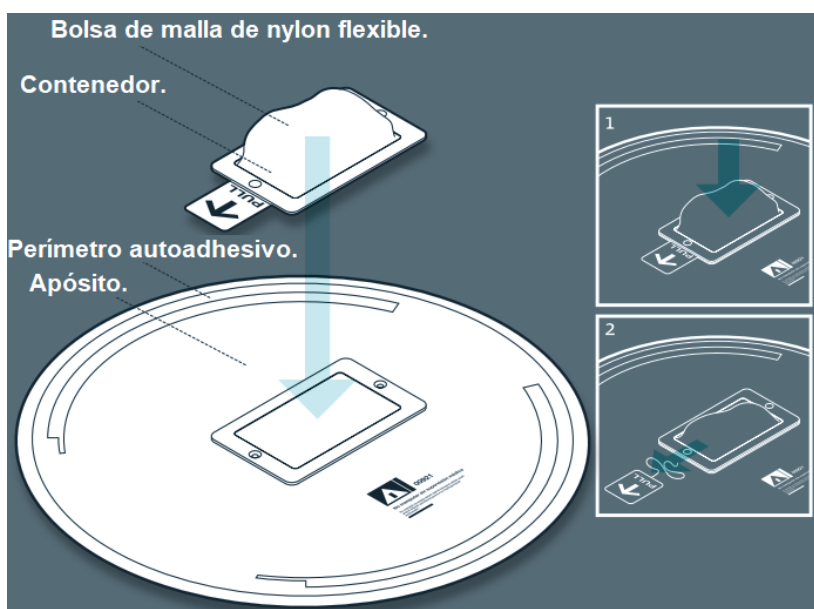


Figura 6d. Propuesta 4.

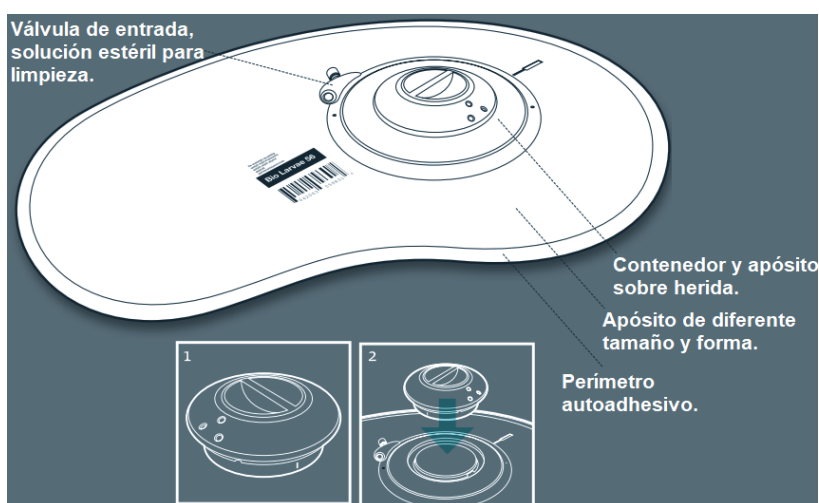


Figura 6e. Propuesta 5.

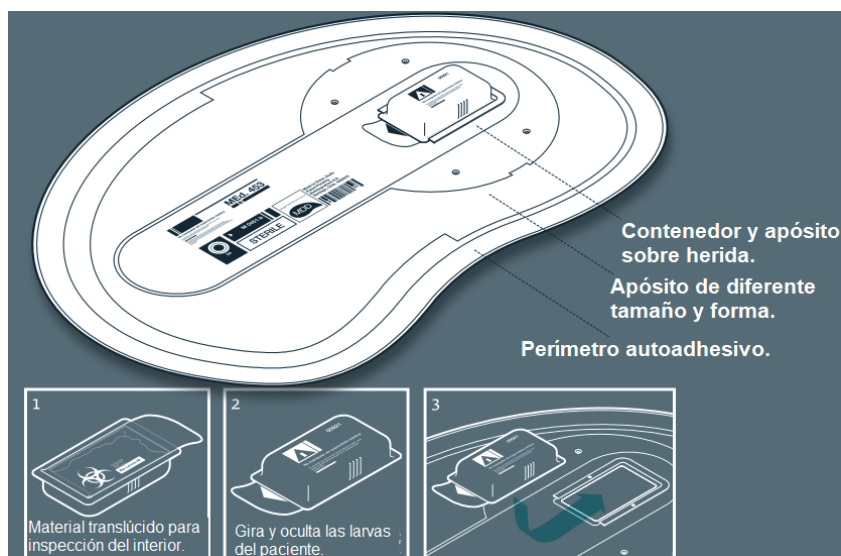


Figura 6f. Propuesta 6.

12. Utilización de la larvaterapia.

Esta terapia está indicada para heridas abiertas y ulceradas que contengan tejido necrótico; ya sea que estén infectadas o no (45).

Por su parte, otros autores describen las heridas aptas para esta terapia como:

- Úlceras venosas.
- Infecciones crónicas.
- Úlceras asociadas a pie diabético (úlceras neuropáticas, úlceras isquémicas según grado de afectación).
- Úlceras por presión (todas ellas con tejido desvitalizado). (11)
- Heridas postraumáticas (hematomas profundos).
- Infecciones quirúrgicas. (37)
- Quemaduras de tercer grado.
- Heridas infectadas por *Staphylococcus aureus* (SARM) (22), o con presencia en el lecho de las lesiones de biofilm bacteriano. (22, 27, 28, 41)
- Ciertos tipos de tumores.

13. Conclusiones.

Aunque teóricamente este tratamiento es viable y efectivo, como todo en la práctica clínica, tiene sus puntos positivos y negativos.

Puntos positivos.

- Puede acelerar la curación de las heridas, promoviendo la formación de tejido de granulación (1) 2-3 semanas (15).
- Comparado con otros tipos de desbridamiento como el método mecánico, la terapia larval evita la sedación continua del paciente para cambio de vendajes y es más específica en cuanto a la eliminación del tejido necrótico evitando así posibles retrasos en la cicatrización por daño del tejido sano circundante y provocando dolor (48).
- Disminuye el estrés por manipulación evitando las complicaciones relacionadas con éste.
- En muchos casos evita la amputación, ablación o eutanasia (6, 47, 50, 52).
- Facilitan la remoción de bacterias patógenas, incluyendo el biofilm (1, 41).
- La terapia larval es una técnica segura y eficaz para la curación de heridas necróticas (11, 50).
- Reducen el mal olor y el dolor (41) en 24-48 horas (6).
- Promueven un rápido desbridamiento (1).
- La resistencia bacteriana a los antibióticos no tiene efecto alguno en el tratamiento (6).
- Sería el tratamiento de elección para pacientes con resistencia a ciertos medicamentos o quienes padezcan de infecciones crónicas, alguna enfermedad inmunosupresora o diabetes (45).

Puntos negativos.

- Puede incrementar el dolor (35), en este caso se resuelve usando analgésicos (44) y reduciendo el tiempo de exposición a las larvas, o suspendiendo el tratamiento en estos casos (9).
- Las larvas son frágiles y tienen un corto periodo de vida, por lo que la eficiencia de la logística en su manejo desde el punto donde se producen hasta el punto donde se van a utilizar es crucial (6).
- No es aplicable con heridas que conecten con la cavidad abdominal, ni cercanas a vasos o nervios principales (47). Incluso, cuando hay sangrado, o la herida está próxima a orificios naturales (9). (51)
- Si no se toman las medidas apropiadas, pueden moverse fuera de la herida (6).

- Sólo ingiere tejido muscular necrótico, más no el tejido de tendones y piel.(44)
- Algunos propietarios de pacientes pueden sentir repulsión por el tratamiento (9) o presentar inconvenientes estéticos y psicológicos (15, 44).
- Ciertos pacientes podrían presentar un cambio en el comportamiento por la molestia en la sensibilidad del tejido sano generada por el movimiento de las larvas en la herida (47, 49, 51).
- Los pacientes también pueden experimentar diseminación de infección o hemorragia; aunque este último puede ser señal de que las larvas han llegado al tejido viable (35).
- Infecciones asociadas a *Proteus mirabilis* y *Escherichia coli* pueden dificultar la efectividad de ésta terapia, debido a que las larvas no prosperan (49).

14. Agradecimientos.

A nuestras familias por el apoyo durante toda la carrera y a Dios por permitirnos culminar con éxito.

A nuestra asesora por el acompañamiento constante durante el proceso y la culminación.

15. Bibliografía.

1. Téllez GA, Acero MA, Pineda LA, Castaño JC. Effect of maggot therapy on minimally necrotic tissues: characterization of larval enzymatic excretion/secretion. *Biomédica Rev del Inst Nac Salud* [Internet]. 2012;32(3):312–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23715180>
2. Rey M, Castañeda A, Gonzalez J, Acero V, Segura A, Bello Garcia F. Evaluación de la terapia larval aplicada a cuatro casos clínicos de animales en Bogotá (Colombia). *Rev Colomb Entomol*. 2010;36(2):254–9.
3. Masiero FS, Thyssen PJ. Evaluation of conventional therapeutic methods versus maggot therapy in the evolution of healing of tegumental injuries in Wistar rats with and without diabetes mellitus. *Parasitol Res* [Internet]. 2016;115(6):2403–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-4991-8>
4. Rios Yuil JM, Mercadillo Perez P, Yuil de Rios E, Rios Castro M. Terapia con larvas de mosca para heridas crónicas. *Dermatologia CMQ*; 2013. p. 134–41.
5. Valachova I, Majtan T, Takac P, Majtan J. Identification and characterisation of different proteases in *Lucilia sericata* medicinal maggots involved in maggot debridement therapy. *J Appl Biomed*. 2014;12(3):171–7.
6. Ávila C, Vázquez R. Larvoterapia: Una Antigua Forma De Curar Heridas. *Biociencias* [Internet]. 2009;6:2–15. Available from: <http://www.uax.es/publicacion/larvoterapia-una-antigua-forma-de-curar-heridas.pdf>
7. Vilcinskas A. Insect biothechnology. Vilcinskas A, editor. Springer. 2011. 67-75 p.
8. Kruglikova AA, Chernysh SI. Surgical maggots and the history of their medical use. *Entomol Rev*. 2013;93(6):667–74.
9. Castaño JC, Téllez GA, Duque JL. Eficacia de la terapia de desbridamiento con larvas de *Lucilia sericata* para el tratamiento de pacientes con heridas dérmicas de difícil manejo. 2007 p. 1–41.

10. Sánchez MC, Chuairé L, Narváez R, Segura NA. Biocirugía: utilización de larvas de insectos necrófagos en la curación de heridas. La terapia larval. RevCiencSalud. 2004;2(2):156–64.
11. Bello García FJ. La terapia larval en el contexto de sus características, avances y perspectivas. 2013 p. 82–91.
12. Bello García FJ, Segura A, Chuairé L, Sánchez MC, Gaona MA, Ríos D. Con larvas de moscas sanan heridas crónicas. Programa de divulgación científica. Fascículo interactivo 02. 2008.
13. Gentil I, Smirnova P. Larvaterapia. Revisión sistemática de evidencia científica. Rev Int Ciencias Podol. 2009;3(1):45–52.
14. Calvo Aguado A. Principios para el manejo de heridas en pequeños animales. Hospital Ars Veterinaria. 2015.
15. Figueroa L, Uherek F, Yusef P, López L, Flores J. Experiencia de terapia larval en pacientes con úlceras crónicas. Parasitol Latinoam. 2006;61(3–4):160–4.
16. Patarroyo MA. Terapia larval en la curación de heridas. Infectio [Internet]. 2015;19(1):1–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.infect.2014.12.003>
17. Figueroa L, Flores J, Rodríguez S. Método de cultivo de larvas de moscas *Lucilia sericata* para terapia larval. Parasitol Latinoam. 2007;62(1–2):79–82.
18. Wolff H, Hansson C. Rearing larvae of *Lucilia sericata* for chronic ulcer treatment - An improved method. Acta Derm Venereol. 2005;85(2):126–31.
19. Universidad de Melbourne. Escala de evaluación del dolor de la universidad de Melbourne. 2010.
20. Rey M, Castañeda A, González J, Acero V, Segura A, Zapata C, et al. Evaluation of the larval therapy in the healing process of infected wounds with *Pseudomonas aeruginosa* in rabbits. Rev Cienc Salud Bogotá. 2008;6(9):9–24.
21. Hedlund C. Cirugía del sistema tegumentario. Welch Fossum T. Cirugía en pequeños animales. Tercera edición. Barcelona: Elsevier; 2009. P. 159-162.

22. Ballester L, Martínez E, Serra N, Palomar F. Utilización de la terapia larval en heridas desvitalizadas: revisión bibliográfica. Trabajo de investigación. 2016
23. Flórez E, Wolff M. Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de *Calliphoridae* (Diptera) de importancia forense en Colombia. *Neotropical Entomology* 38 (3): 2009.
24. Gonzales L, Fortes M. Terapia larval desbridante. *Jano* [revista en internet]. 2010;74–7.
25. Acton C. A Know-How Guide To Using Larval Therapy for Wound. *Wound Esesntials*. 2007;2:156–9.
26. Benavente YV, Bueno SM, Palacios RJ, Agulló DA. Revisión sobre el tratamiento de las heridas crónicas mediante larvas de mosca corónida verde. *Med Natur* [Internet]. 2011;5(2):82–4.
27. Sherman RA. Mechanisms of maggot-induced wound healing: What do we know, and where do we go from here? *Evidence-based Complement Altern Med*. 2014;2014.
28. Sherman RA. Maggot Therapt Takes Us Back to the Future of Wound Care: New and Improved Maggot Therapy for the 21st Century. *J Diabetes Sci Technol*. 2009;3(2):336–44
29. Olarte J, Fuentes J, Isaza G, Tribiño G, Melo OL. Especializada De Medicamentos Y Productos Biológicos De La Comisión Revisora. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – INVIMA. Acta No. 23. Sesión Ordinaria. 2008;(2008029671):20–1.
30. Rodríguez P, González M. Eficacia de la terapia larval en el tratamiento de heridas crónicas. *Nurse Inv*. 2016;13(85):1–7.
31. Sherman RA. Mechanisms of maggot-induced wound healing: What do we know, and where do we go from here? *Evidence-based Complement Altern Med*. 2014;2014:13.
32. Castañeda A, González J del P, Rey M. Evaluación de la terapia larval derivada de *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), cepa Bogotá-Colombia, en la curación de heridas infectadas en un modelo animal. 2007.

33. Choudhary V, Choudhary M, Pandey S, Chauhan VD, Hasnani JJ. Maggot debridement therapy as primary tool to treat chronic wound of animals. Vet World. 2016; 9 (4):403–9.
34. Lorca N. C. Dispositivo para Desbridamiento Larval. Universidad de Chile. Santiago de Chile; 2009.
35. Orthopedics Today. La terapia de gusanos es un tratamiento efectivo para heridas abiertas [Internet]. 2004 [citado 2018 Jul 20]. Disponible en: <https://www.healio.com/orthopedics/foot-ankle/news/print/orthopedics-today/%7B7fdf0a4a-%0A95c0-4092-b5b5-94848dcec548%7D/maggot-therapy-an-effective-treatment-for-open-wounds>
36. Desposorio S, Nomberto S, Paz S, Quispe M, Rodríguez B, Ureta G, et al. Efecto de la temperatura sobre la supervivencia de larvas II de *Lucilia sericata* en condiciones de laboratorio. REBIOLEST. 2015; 3(2):55.
37. Retana Moreira L, Belfort Arguedas K, Calderón Arguedas O, Troyo Rodríguez A, Gamboa Coronado MDM. Desarrollo y evaluación de un método de obtención de larvas estériles de *Lucilia eximia* para su uso en terapia larval. Rev. Cuba Investig. Biomed. 2014; 33(1):44–51.
38. Agencia iberoamericana para la difusión de la ciencia y la tecnología. Larvas de moscas, promisorio fuente de antibacterianos. Bogotá D.C. 2014.
39. Pinilla B. T, Acuña Y, Cortes B. D, Díaz R. A, Segura A, Bello FJ. Características del ciclo biológico de *Lucilia sericata* (MEIGEN, 1826) (DIPTERA: *Calliphoridae*) sobre dietas diferentes. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. [Internet]. 2010; 13(2):153–61.
40. Acuña M. Y, Cortés B. D, Vargas M, Segura NA, Bello García FJ. Caracterización citogenética de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (*Diptera: Calliphoridae*), Cepa Bogotá, Colombia. Rev. Cienc. Salud. 2011; 9(2):111–24.
41. Mudge E, Price P, Neal W, Harding KG. A randomized controlled trial of larval therapy for the debridement of leg ulcers: Results of a multicenter, randomized, controlled, open, observer blind, parallel group study. Wound Repair Regen. 2014; 22(1):43–51.
42. Rodríguez C. V Congreso de la sociedad española de heridas. In: Pacheco C. FJ,

editor. Terapia de desbridamiento larval en el tratamiento de heridas crónicas [Internet]. Madrid: SEHER; 2014. p. 34. Disponible en: http://heridasycicatrizacion.es/images/site/2017/marzo2017/Revista_SEHER_2017_6_Febrero_Completa.pdf%0Ahttp://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/Resultados_Busqueda.asp?q=heridas
BibVirtual/Libros&domains=sisbib.unmsm.edu.pe&site=search=sisbib.unmsm.edu.pe

43. BTER Foundation, Sherman RA. Template for Maggot Debridement Therapy (MDT). Irvine; 2003-2004.
44. Jun-Cheng W, Ren-Rong L, Ran H, Hong-Bin F. Maggot therapy for repairing serious infective wound in a severely burned patient. Chinese J. Traumatol. [Internet]. 2012; 15(2):124–5.
45. Sun X, Jiang K, Chen J, Wu L, Lu H, Wang A, et al. A systematic review of maggot debridement therapy for chronically infected wounds and ulcers. Int. J. Infect. Dis. 2014; 25(2014):32–7.
46. Sun X, Chen J, Zhang J, Wang W, Sun J, Wang A. Maggot debridement therapy promotes diabetic foot wound healing by up-regulating endothelial cell activity. J Diabetes Complications [Internet]. 2016; 30(2):318–22.
47. Lepage OM. Is biotherapy with maggots a solution to increase wound healing in equids? Abstracts European Veterinary Conference Voorjaarsdagen 2011; 1-4.
48. Vigani A, Schnoke A, Pozzi, A. Maggot debridement and leech therapy as treatment of a partial digital amputation injury in a dog. WOUNDS 2011; 23(5): 9–15.
49. Morrison S. Maggot debridement therapy for laminitis. Vet Clin. Equine 2010; 26: 447–450.

50. Sherman RA, Morrison S, Ng D. Maggot debridement therapy for serious horse wounds – A survey of practitioners. *Vet J* 2007; 174: 86–91.
51. Jones G, Wall R. Maggot-therapy in veterinary medicine. *Rev. Vet. Sci.* 2008; 85 (2): 394-398.
52. Sherman RA, Stevens H, Ng D. Iversen E. Treating wounds in small animals with maggot debridement therapy: A survey of practitioners. *Vet. J.* 2007; 173: 138–143.
53. Bell NJ, S Thomas. Use of sterile maggots to treat panniculitis in an aged donkey. *Vet Rec.* 2001; 149 (25):768-70.
54. Zapata KL. Primer registro y ciclo de desarrollo de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera: Calliphoridae) en campo, distrito de Trujillo, Perú 2014. Universidad nacional de Trujillo. 2014.